

PTO 03-1790

World Patent

WO 94/00132

**Use of Guanosine and Its Precursors and Derivatives in the
Manufacture of Drugs for the Treatment of Brain Dysfunction**
[Utilisation de la guanosine, de ses précurseurs, et ses dérivés
pour la fabrication de médicaments destinés à traiter les
déficits fonctionnels cérébraux]

Marie Peeters et al.

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Washington, D.C. February 2003

Translated by: Schreiber Translations, Inc.

Country : World
Document No. : WO 94/00132
Document Type : Patent
Language : French
Inventor : Marie Peeters et al.
Applicant : Pierre Fabre Médicament
IPC : A61K 31/70, 31/52
Application Date : June 23rd, 1993
Publication Date : January 6th, 1994
Foreign Language Title : Utilisation de la guanosine, de ses précurseurs, et ses dérivés pour la fabrication de médicaments destinés à traiter les déficits fonctionnels cérébraux
English Title : Use of Guanosine and Its Precursors and Derivatives in the Manufacture of Drugs for the Treatment of Brain Dysfunction

The present invention relates to the field of drugs for treating a variety of brain dysfunctions.

As part of a general analysis of the pathogenesis of metabolic disorders causing mental deficiency, a number of chemical mechanisms that are essential to neuron function have been analyzed. Among these mechanisms, it appears that the metabolism of monocarbonates plays a crucial role. Indeed, most enzyme blockages that cause mental deficiency, in the absence of a primary lesion in the membrane and sheath components and in the absence of major disruption of cerebral embryogenesis, involve monocarbonate disruption.

Hence, in vitro assays examining the mitotic index variation in the presence of various metabolites and antimetabolites of purine synthesis have shown a highly significant correlation with various chromosomal syndromes. Specifically, they showed a highly significant increase in the mitotic index of lymphocytes originating from patients suffering from fragile X syndrome, when guanosine, a guanosine precursor, or a guanosine derivative is added to the culture medium.

¹ Numbers in the margin indicate pagination in the foreign text.

For this reason, the present invention relates to the use of guanosine and its precursors and derivatives in the manufacture of drugs for treating brain dysfunction.

More specifically, the guanosine precursors and derivatives will be selected from among the following compounds: guanine, guanosine 3'-monophosphate, guanosine 5'-monophosphate, guanosine 5'-diphosphate, and guanosine 5'-triphosphate, guanosine 3',5'-cyclic monophosphate, inosine, xanthine, hypoxanthine, xanthosine, and 5'-inosinic acid.

The drugs that fall within the scope of the present invention are to be used in treating chromosomal syndromes causing mental deficiency, such as trisomy 21 syndrome and fragile X syndrome, as well as behavioral disorders resulting from central nervous system disorders, such as Alzheimer's disease. These drugs may also be used in treating hyperactivity, hyperreactivity, and anxiety syndromes, or psychotic or autistic reactions.

/2

Other characteristics and advantages of the present invention will become evident upon reading the detailed description below, especially the experimental results found therein.

Fragile X syndrome is the second most common chromosomal cause of mental retardation and the most common cause of endogenous mental retardation. The mutation rate is high. The calculated incidence is 1 in 1250 men and 1 in 2000 women. Precise, early diagnosis is therefore important for initiating a specific treatment.

This syndrome is characterized by the presence of a fragile site on the long arm of chromosome X, at Xq27. Mental retardation is transmitted according to the X-linked mode with incomplete penetrance. Roughly 30% of heterozygotic female carriers are mentally retarded and roughly 20% of male carriers show neither a fragile site nor clinical symptoms. The genotype and phenotype are therefore not absolutely correlated.

It has been observed that the in vitro expression of this fragile site depends upon the composition of the culture medium, and that deficiencies in certain purine compounds might encourage the expression of the fragile site in the lymphocytes.

It has therefore been determined that a defect of purine metabolism, whether primary or secondary, may play a major role in various mental retardation syndromes.

Example of In Vitro Experimentation with Guanosine

We grew twenty-eight samples of peripheral blood from patients suffering from fragile X syndrome (twenty-four retarded

males and four retarded females) for 72 hours in TC199 medium (Seromed®) to which was added 25% AB human serum, phytohemagglutin C (IBF, France), penicillin, and streptomycin. The culture technique, harvesting, and microscopic examination were performed using known standard procedures.

At the beginning of the culture, we also added guanosine at a concentration of 3.1 mg/l.

We harvested the lymphocyte cultures using standard chromosome analysis techniques. The slides were tinted with Giemsa and coded. We had a minimum of 3000 cells read by two different observers in order to calculate the mitotic index, expressed as a ratio: number of mitoses / number of cells.

/3

Twenty-six patients were not treated with drugs during the lymphocyte culture.

The controls used for the analyses were as follows: 135 normal adults, 79 patients suffering from trisomy 21, 10 patients suffering from cri du chat syndrome, and 68 patients suffering from mental retardation (with or without chromosomal anomalies other than those mentioned above).

We analyzed the results by comparing the mitotic index of each experiment with the control culture of the patient and the results were expressed as the percentage of increase or decrease

in the mitotic index percentage. The statistical comparisons of the groups were performed based on Student's t test. The in vitro experiment results appear in tables I through III below.

It therefore appears that adding guanosine significantly increases the mitotic index in fragile X syndrome patients. When compared to the total sample of patients (patients affected by mental retardation of various etiologies and patients affected by Down syndrome), the difference is very significant ($0.01 < p < 0.005$); when compared to the total of the controls, the difference is not as marked but remains significant ($0.05 < p < 0.025$). This appears to be due to the differences between male and female response to guanosine (the female controls increase their mitotic index significantly more than male control patients: $p = 0.025$). We therefore refined the analysis in order to examine only the responses in male patients. We observed a very significant difference in the response to guanosine when we compared men affected by fragile X syndrome to the total male sample ($p=0.001$), to the normal male controls ($0.005 < p < 0.001$), or to men whose retardation had other etiologies ($0.005 < p < 0.001$). The difference between the men suffering from fragile X syndrome and the men affected by Down syndrome is significant ($p = 0.025$).

In order to test the specificity of the observed changes, we sought out patients showing a mitotic index increase higher than 10% in the presence of guanosine.

- 13 out of 19 fragile X syndrome patients showed an increase greater than 10% in the presence of guanosine (all fragile X syndrome patients had an increase in their mitotic index).
- 29 out of 80 normal controls ($X = 6.5$; $0.02 < p < 0.01$)

/4

- 7 out of 29 normal male controls ($X=9.3$; $0.01 < p < 0.001$)
- 12 out of 34 trisomy 21 patients ($X=5.4$; $p=0.02$). There were 7 females and 5 males; the 5 males all suffered from psychotic complications.
- 17 out of 58 mental retardation patients ($X=9.2$; $0.01 < p < 0.0001$).

There were 7 females and 10 males. It should be noted that 9 out of the 10 male patients suffered from associated psychiatric complications. Several men whose mitotic index increased in the presence of guanosine had originally been focused on in order to look for Xqfra, but the cytogenetic exam did not reveal any X fragility.

Thyroid function tests in males suffering from fragile X syndrome and in males suffering from X-linked mental retardation

showed normal basal serum levels of thyroid hormones and TSH.

The response to TRH [sic] is less clear than in normal subjects.

Given that the link to the THR receptor may be allosterically adjusted by guanine nucleotides, it can be reasonably hypothesized that, if men suffering from fragile X syndrome have a particular defect on the guanine pathway, this could modify the THR receptor link and consequently the response to TSH.

The effect of the guanine nucleotides on the neurotransmitters of the central nervous system is extremely great. It is not known whether guanosine is a neurotransmitter like adenosine, but it is known that guanine nucleotides negatively modulate the agonist link to dopamine, muscarinic-cholinergic, and opiate adrenergic receptors. The phencyclidine (PCP) receptors are also regulated by guanine nucleotides. Moreover, guanine nucleotides play a major role in the metabolism of pterine (GPT and the precursor of tetrahydrobiopterine), as well as in the activity of microtubules (tubuline synthesis).

cAMP and cGMP play a unique role in regulating neurotransmitters, and their relationship appears to have clinical importance. Indeed, it has been suggested that these two cyclic nucleotides regulate cholinergic-adrenergic balance.

/5

Following birth, purine metabolism in the central nervous system is characterized by a decrease of de novo purine synthesis, an increase in hypoxanthine-phosphoribosyltransferase (HPRT) activity, and an absence of xanthine oxidase activity. Consequently, the brain is largely dependent on recovery pathways in order to preserve the GTP level. The essentially de novo metabolism during brain development (growth of neuroblasts and neuroglial proliferation) might explain why fragile X syndrome patients have an essentially normal cerebral morphology. The main neuroanatomical change documented in these patients (as well as in autism patients) is hypoplasia of the posterior vermis.

Any metabolic defect along the purine recovery pathway would have obvious neurological and behavioral consequences after this period of neuroblastic and neuroglial proliferation. The perinatal period during which gene permutation and receptor imprinting occurs is vulnerable to late "metabolic teratogenesis." A genetic metabolic defect that brings in a gene or group of genes that are normally activated during this period will have major repercussions on membrane receptors and postnatal brain development. It is interesting to note that analysis of the neocortex in adults suffering from fragile X syndrome

shows an abnormal spinal dendritic morphology suggesting an anomaly in post-natal dendritic maturation.

Clinical Experiment with a Guanosine Precursor: Inosine

Forty-six patients were treated for at least 3 months with 21 favorable results, two of which were spectacular, and 25 null results, with no secondary disorder indicated:

- Trisomy 21: out of 19 patients, eight favorable responses, two of which were near-spectacular, in patients severely affected by behavioral disturbances
- 4p- Syndrome: out of 2 patients, 2 favorable results
- 18q- Syndrome: out of 4 patients, 2 favorable results
- Willi Prader Syndrome: out of 2 patients, 2 favorable results

/6

- Psychotic syndrome without chromosomal anomaly: out of 5 patients, 5 favorable results
- Hyperactivity and Hyperreactivity Syndrome: out of 2 patients, 2 favorable results.

Therapeutic Indications

[Given] the recorded effects on behavioral disorders (anxiety, instability, aggressivity and autoaggressivity, psychotic or autistic reactions, etc.), it appears that guanosine and its immediate precursors and derivatives are able to reequilibrate the disturbed purine metabolism found in many

psychotic-type conditions. For guanosine, anticipated doses range from 5 to 150 mg/kg/day, and for the other abovementioned precursors and derivatives, specifically xanthosine and inosine, administration doses range from 20 to 150 mg/kg/day.

The drugs that are the objects of the present invention may be prepared using known standard techniques. They may involve, specifically, various dosage forms of guanosine and/or of its derivatives and precursors, especially for oral administration, e.g., tablets, gelcaps, or the like.

Disorders whose psychiatric-type complications are likely to be improved by this medication are:

- chromosomal syndromes causing mental deficiency (trisomy 21, X fragility, 4p-, 5p-, 18q-, etc.);
- regressive psychosis syndromes and autistic syndromes, and, more generally, behavioral disturbances occurring during serious central nervous system disorders, such as Alzheimer's disease, for example.

TABLE I

RATE OF MITOTIC INDEX INCREASE OR DECREASE
 IN FRAGILE X SYNDROME PATIENTS,
 IN CONTROLS, IN MENTALLY-RETARDED PATIENTS,
 AND IN PATIENTS SUFFERING FROM OTHER ETIOLOGIES

N: number of patients

M: percentage of mitotic index increase or decrease

SD: standard deviation

t: Student's t test

		GUANOSINE
Total number of Xqfra patients	N	19
	M	18.4
	SD	14.6
Total patient Sample	N	215
	M	2.8
	SD	24.3
	t	2.74
	p	0.01<p<0.005
Control group Total	N	80
	M	5.6
	SD	24.4
	t	2.17
	p	0.05<p<0.025
Trisomy 21	N	34
	M	-2
	SD	30.6
	t	2.68
	p	p=0.01
Mental retardation	N	58
	M	-2.6
	SD	20.4
	t	4.1
	p	p<0.001

TABLE II

RATE OF MITOTIC INDEX INCREASE OR DECREASE IN MALE PATIENTS
 SUFFERING FROM FRAGILE X SYNDROME, MENTALLY-RETARDED MALE
 PATIENTS, MALE PATIENTS WITH OTHER ETIOLOGIES, AND IN THE MALE
 CONTROL GROUP

		GUANOSINE
Total number of	N	16
Male Xqfra patients	M	17.6
	SD	19.7
Total male patient	N	90
Sample	M	-1.4
	SD	21.8
	t	3.3
	p	p=0.001
Male control group	N	29
Total	M	-1.5
	SD	19
	t	3.35
	p	0.005< p <0.001
Trisomy 21 males	N	17
	M	-0.5
	SD	25.5
	t	2.36
	p	p=0.025
Mentally-retarded	N	34
males	M	-2.8
	SD	23
	t	3.15
	p	0.005< p <0.001

/9

TABLE III

RATE OF MITOTIC INDEX INCREASE OR DECREASE IN PATIENTS SUFFERING
FROM FRAGILE X SYNDROME AND IN DOWN SYNDROME PATIENTS

			GUANOSINE
Total number of Xqfra patients	N		19
	M		18.4
	SD		14.6
Sample of trisomy 21 psychotic patients	N		8
	M		13.4
	SD		31.3
	t		NS
Uncomplicated Trisomy 21 patients	N		12
	M		-14
	SD		21.1
	t		4.94
	p		p<<0.001
Fragile X syndrome males	N		16
	M		17.6
	SD		15.7
Trisomy 21 Psychotic males	N		7
	M		20.1
	SD		27.5
	t		0.3
Trisomy 21 Psychotic males	N		7
	M		-19
	SD		7.3
	t		5.62
	p		p<<0.001

/10

CLAIMS

1. Use of guanosine as well as its precursors and derivatives in the manufacture of drugs for treating brain dysfunction.

2. Use according to Claim 1, wherein the guanosine precursor is guanine.
3. Use according to Claim 1, wherein the guanosine precursor is inosine.
4. Use according to Claim 1, wherein the precursor is xanthine.
5. Use according to Claim 1, wherein the precursor is hypoxanthine.
6. Use according to Claim 1, wherein the precursor is xanthosine.
7. Use according to Claim 1, wherein the precursor is 5'-inosinic acid.
8. Use according to Claim 1, wherein the guanosine derivative is guanosine 3'-monophosphate.
9. Use according to Claim 1, wherein the guanosine derivatives are guanosine 5'-monophosphate, 5'-diphosphate, and 5'-triphosphate.
10. Use according to Claim 1, wherein the guanosine derivative is guanosine cyclic 3',5'-monophosphate.
11. Use according to any of Claims 1 through 10, wherein said drugs are intended to treat chromosomal syndromes resulting in mental deficiency, such as trisomy 21 and X fragility.

12. Use according to any of Claims 1 through 10, wherein said drugs are intended to treat behavioral disturbances occurring over the course of central nervous system disorders, such as Alzheimer's disease.

13. Use according to any of Claims 1 through 10, wherein said drugs are intended to treat hyperactivity, hyperreactivity, or anxiety syndromes, or psychotic or autistic reactions.

/11

MODIFIED CLAIMS

[Received by the International Bureau on November 18th, 1993
(11.18.93); Claim 10 deleted; Claims 11-13 renumbered 10-12;
other claims unchanged (1 page)]

1. Use of guanosine as well as its precursors and derivatives, with the exception of adenosine and guanosine cyclic 3',5'-monophosphates, in the manufacture of drugs for treating brain dysfunction.

2. Use according to Claim 1, wherein the guanosine precursor is guanine.

3. Use according to Claim 1, wherein the guanosine precursor is inosine.

4. Use according to Claim 1, wherein the precursor is xanthine.

5. Use according to Claim 1, wherein the precursor is hypoxanthine.

6. Use according to Claim 1, wherein the precursor is xanthosine.

7. Use according to Claim 1, wherein the precursor is 5'-inosinic acid.

8. Use according to Claim 1, wherein the guanosine derivative is guanosine 3'-monophosphate.

9. Use according to Claim 1, wherein the guanosine derivatives are guanosine 5'-monophosphate, 5'-diphosphate, and 5'-triphosphate.

10. Use according to any of Claims 1 through 9, wherein said drugs are intended to treat chromosomal syndromes resulting in mental deficiency, such as trisomy 21 and X fragility.

11. Use according to any of Claims 1 through 9, wherein said drugs are intended to treat behavioral disturbances occurring over the course of central nervous system disorders, such as Alzheimer's disease.

12. Use according to any of Claims 1 through 9, wherein said drugs are intended to treat hyperactivity, hyperreactivity, or anxiety syndromes, or psychotic or autistic reactions.



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁵ : A61K 31/70, 31/52		A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 94/00132 (43) Date de publication internationale: 6 janvier 1994 (06.01.94)
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR93/00625 (22) Date de dépôt international: 23 juin 1993 (23.06.93) (30) Données relatives à la priorité: 92/07721 24 juin 1992 (24.06.92) FR</p> <p>(71) Déposant (<i>pour tous les Etats désignés sauf US</i>): PIERRE FABRE MEDICAMENT [FR/FR]; 45, place Abel-Gance, F-92100 Boulogne (FR).</p> <p>(72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (<i>US seulement</i>): PEETERS, Marie, A. [FR/FR]; 10, rue Fenoux, F-75015 Paris (FR). LE-JEUNE, Jérôme [FR/FR]; 31, rue Galande, F-75005 Paris (FR).</p> <p>(74) Mandataire: AHNER, Francis; Cabinet Reginbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).</p>		<p>(81) Etats désignés: AU, CA, JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> <i>Avec revendications modifiées.</i></p>	
<p>(54) Title: USE OF GUANOSINE AND ITS PRECURSORS AND DERIVATIVES IN THE MANUFACTURE OF DRUGS FOR THE TREATMENT OF BRAIN DYSFUNCTION</p> <p>(54) Titre: UTILISATION DE LA GUANOSINE, DE SES PRECURSEURS ET SES DERIVES POUR LA FABRICATION DE MEDICAMENTS DESTINES A TRAITER LES DEFICITS FONCTIONNELS CEREBRAUX</p> <p>(57) Abstract</p> <p>Use of guanosine and its precursors and derivatives in the manufacture of drugs for the treatment of brain dysfunction such as chromosomal syndromes causing mental deficiency as in trisomy 21 and Fragile X syndrome, and behavioral disorders occurring in diseases of the central nervous system such as Alzheimer's disease, and hyperactivity, hyperreactivity, anxiety, or psychotic or autistic syndromes.</p> <p>(57) Abrégé</p> <p>L'invention concerne l'utilisation de la guanosine ainsi que de ses précurseurs et dérivés pour la fabrication de médicaments destinés au traitement des déficits fonctionnels cérébraux tels que les syndromes chromosomiques entraînant une débilité de l'intelligence tels que la trisomie 21 et la fragilité de l'X, les troubles du comportement survenant au cours de maladies du système nerveux central telles que la maladie d'Alzheimer, et les syndromes d'hyperactivité, d'hyperréactivité, d'anxiété, ou de réactions psychotiques ou autistiques.</p>			

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	FR	France	MR	Mauritanie
AU	Australie	GA	Gabon	MW	Malawi
BB	Barbade	GB	Royaume-Uni	NE	Niger
BE	Belgique	GN	Guinée	NL	Pays-Bas
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	NO	Norvège
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	NZ	Nouvelle-Zélande
BJ	Bénin	IE	Irlande	PL	Pologne
BR	Brésil	IT	Italie	PT	Portugal
BY	Bélarus	JP	Japon	RO	Roumanie
CA	Canada	KP	République populaire démocratique de Corée	RU	Fédération de Russie
CF	République Centrafricaine	KR	République de Corée	SD	Soudan
CG	Congo	KZ	Kazakhstan	SE	Suède
CH	Suisse	LI	Liechtenstein	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SK	République slovaque
CM	Cameroun	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
CN	Chine	LV	Lettonie	TD	Tchad
CS	Tchécoslovaquie	MC	Monaco	TG	Togo
CZ	République tchèque	MG	Madagascar	UA	Ukraine
DE	Allemagne	ML	Mali	US	Etats-Unis d'Amérique
DK	Danemark	MN	Mongolie	UZ	Ouzbékistan
ES	Espagne			VN	Viet Nam
FI	Finlande				

I

UTILISATION DE LA GUANOSINE, DE SES PRECURSEURS ET SES DERIVES POUR LA FABRICATION DE MEDICAMENTS DESTINES A TRAITER LES DEFICITS FONCTIONNELS CEREBRAUX

La présente invention concerne le domaine des médicaments destinés au traitement de divers déficits fonctionnels cérébraux.

Dans le cadre d'une analyse générale de la pathogénie des maladies métaboliques déterminant une débilité de l'intelligence, un certain nombre de mécanismes chimiques indispensables au fonctionnement des neurones ont été analysés. Parmi ceux-ci, il semble que le métabolisme des monocarbonnés joue un rôle primordial. En effet, la plupart des blocages enzymatiques provoquant une débilité de l'intelligence, sans lésion primaire des constituants des membranes et des gaines et sans trouble majeur de l'embryogenèse cérébrale, présentent en commun un trouble des monocarbonnés.

C'est ainsi que des dosages *in vitro* examinant la variation de l'indice mitotique en présence de divers métabolites et antimétabolites de la synthèse des purines, ont permis d'établir une corrélation très significative avec divers syndromes chromosomiques. En particulier, il a ainsi pu être mis en évidence une augmentation très significative de l'indice mitotique de lymphocytes provenant de malades atteints du syndrome de l'X fragile, lorsqu'on ajoute au milieu de culture de la guanosine ou encore un précurseur ou un dérivé de la guanosine.

C'est pourquoi la présente invention concerne l'utilisation de la guanosine ainsi que de ses précurseurs et dérivés pour la fabrication de médicaments destinés au traitement des déficits fonctionnels cérébraux.

Les précurseurs et dérivés de la guanosine seront plus particulièrement choisis parmi les composés suivants : la guanine, le 3'-monophosphate de guanosine, le 5'-monophosphate, le 5'-diphosphate et le 5'-triphosphate de guanosine, le 3',5'-monophosphate cyclique de guanosine, l'inosine, la xanthine, l'hypoxanthine, la xanthosine et l'acide 5'-inosinique.

Les médicaments entrant dans le cadre de la présente invention sont en particulier destinés à assurer le traitement des syndromes chromosomiques entraînant une débilité de l'intelligence, telle que la trisomie 21 et la fragilité de l'X, ainsi que des troubles du comportement survenant au cours de maladies du système nerveux central, telle que la maladie d'Alzheimer. Ces médicaments peuvent également être destinés au traitement de syndromes d'hyperactivité, d'hyperréactivité, d'anxiété, ou de réactions psychotiques ou autistiques.

D'autres caractéristiques et avantages de la présente invention apparaîtront à la lecture de la description détaillée faite ci-après, notamment en regard de quelques résultats expérimentaux.

Le syndrome de l'X fragile est la seconde cause chromosomique du retard mental et la cause la plus commune du retard mental familial. Le taux de mutation est élevé. L'incidence calculée est de 1 sur 1250 chez les hommes et de 1 sur 2000 chez les femmes. Ainsi, un diagnostic précis et précoce est important en vue d'un traitement spécifique.

Ce syndrome se caractérise par la présence d'un site fragile sur le bras long du chromosome X, en Xq27. Le retard mental est transmis selon le mode dominant lié à l'X avec pénétrance incomplète. Environ 30% des porteurs féminins hétérozygotes ont un retard mental et environ 20% des hommes transmetteurs ne présentent ni le site fragile, ni les symptômes cliniques. Le génotype et le phénotype ne sont donc pas en corrélation absolue.

Il a été observé que l'expression de ce site fragile in vitro dépendait de la composition du milieu de culture et que les déficiences en certains composés puriques pourraient favoriser l'expression du site fragile dans les lymphocytes.

Il a ainsi pu être déterminé qu'un défaut du métabolisme purique, qu'il soit primaire ou secondaire, pouvait jouer un rôle majeur dans divers syndromes du retard mental.

Exemple d'expérimentation in vitro avec la guanosine

On cultive vingt-huit échantillons de sang périphérique provenant de malades atteints du syndrome de l'X fragile (vingt-quatre hommes et quatre femmes retardés) pendant 72 heures dans le milieu TC199 (Seromed^R) additionné de sérum AB humain à 25%, phytohémagglutine C (IBF, France), pénicilline et streptomycine. La technique de culture, la récolte et l'examen microscopique sont effectués de manière classique en soi connue.

On ajoute également au début de la culture de la guanosine à une concentration de 3,1 mg/l.

On recueille les cultures lymphocytaires avec les techniques standards utilisées pour l'analyse chromosomique. On colore les lames au Giemsa et on les code. On fait lire un minimum de 3000 cellules par deux observateurs différents pour calculer l'indice mitotique, exprimé sous la forme du rapport : nombre de mitoses / nombre de cellules.

Vingt-six malades ne reçoivent pas de médicament au moment de la culture des lymphocytes.

5 Les témoins utilisés pour l'analyse sont les suivants : 135 adultes normaux, 79 malades atteints de trisomie 21, 10 malades atteints du syndrome du cri du chat et 68 malades atteints de retard mental (avec ou sans anomalies chromosomiques autres que celles mentionnées ci-dessus).

10 On analyse les résultats en comparant l'indice mitotique de chaque expérience à la propre culture témoin du malade et on exprime les résultats en pourcentage d'augmentation ou de diminution en pourcentage de l'indice mitotique. Les comparaisons statistiques entre les groupes se font sur la base du test *t* de Student. Les résultats de l'expérimentation *in vitro* sont consignés dans les tableaux I à III ci-après.

15 Il apparaît ainsi que l'addition de guanosine augmente de façon significative l'indice mitotique chez les malades atteints du syndrome de l'X fragile. Lorsqu'on compare à l'échantillon total de malades (malades atteints de retard mental de diverses étiologies et malades atteints du syndrome de Down), la différence est très significative ($0,01 < p < 0,005$); lorsqu'on compare au total des témoins, la différence n'est pas aussi marquée mais reste significative ($0,05 < p < 0,025$). Ceci semble être dû aux différences entre la réponse des hommes et des femmes à la guanosine (les témoins femmes augmentant leur indice mitotique significativement plus que les malades témoins masculins : $p = 0,025$). On affine donc l'analyse pour examiner les réponses chez les malades masculins seulement. On observe ainsi une différence très significative dans la réponse à la guanosine lorsqu'on compare les hommes atteints de l'X fragile à l'échantillon total des hommes ($p = 0,001$), aux témoins masculins normaux ($0,005 < p < 0,001$) ou aux hommes ayant des retards d'autres étiologies ($0,005 < p < 0,001$). La différence entre les hommes atteints de l'X fragile et les hommes atteints du syndrome de Down est significative ($p = 0,025$).

20 Pour tester la spécificité des modifications observées, on recherche les malades manifestant une augmentation de l'indice mitotique supérieure à 10% en présence de guanosine.

25 - 13/19 malades atteints d'X fragile présentent une augmentation de plus de 10% en présence de guanosine (tous les malades atteints de l'X fragile augmentent leur indice mitotique).

- 29/80 témoins normaux ($X = 6,5$; $0,02 < p < 0,01$)

- 7/29 témoins masculins normaux ($X=9,3$; $0,01 < p < 0,001$)
 - 12/34 malades atteints de trisomie 21 ($X=5,4$; $p=0,02$). Il y a 7 femmes et 5 hommes; les 5 hommes ont tous des complications psychotiques.
- 5 - 17/58 malades atteints de retard mental ($X=9,2$; $0,01 < p < 0,0001$). Il y a 7 femmes et 10 hommes. Il faut noter que 9 des 10 malades masculins présentent des complications psychiatriques associées. Plusieurs hommes présentant une augmentation de l'indice mitotique en présence de guanosine avaient été adressés à l'origine en vue d'une recherche de Xqfra, sans que l'examen cytogénétique ait décelé une fragilité de l'X.
- 10 Des tests de fonctionnement thyroïdien chez des hommes atteints du syndrome de l'X fragile et chez des hommes atteints de retard mental lié à l'X ont montré des niveaux sériques basaux normaux d'hormones thyroïdiennes et de TSH. La réponse à la TRH est moins nette que chez les sujets normaux. Etant donné que la liaison au récepteur THR peut être réglée de façon allostérique par les nucléotides de guanine, on peut raisonnablement faire l'hypothèse que, si les hommes atteints d'X fragile présentent un certain défaut sur la voie de la guanine, ceci pourrait modifier la liaison en récepteur de THR et par conséquent la réponse à TSH.
- 15 L'effet des nucléotides de guanine sur les neurotransmetteurs du système nerveux central est extrêmement important. On ne sait pas si la guanosine est un neurotransmetteur comme l'adénosine, mais on sait que les nucléotides de guanine modulent négativement la liaison agoniste aux récepteurs adrénnergiques à la dopamine, muscarinique-cholinergique et aux opiacées. Les récepteurs à la phénycyclidine (PCP) sont également régulés par les nucléotides de guanine. En outre, les nucléotides de guanine jouent un rôle majeur dans le métabolisme de la ptérine (GPT et le précurseur de la tétrahydrobioptérine), ainsi que dans la dynamique des microtubules (synthèse de la tubuline).
- 20 Le cAMP et le cGMP jouent un rôle unique dans la régulation des neurotransmetteurs et leur rapport semble être d'une importance clinique. De fait, il a été suggéré que ces deux nucléotides cycliques régulent l'équilibre cholénergique-adrénnergique.
- 25
- 30
- 35

Après la naissance, le métabolisme purique dans le système nerveux central est caractérisé par une diminution de la synthèse purique de novo, par une augmentation de l'activité d'hypoxanthine-phosphoribosyltransférase (HPRT) et par une absence d'activité de la xanthine oxydase. Par conséquent, le cerveau est largement dépendant des voies de récupération pour conserver le niveau de GTP. Le métabolisme essentiellement de novo pendant le développement du cerveau (croissance des neuroblastes et prolifération neurogliale) pourrait expliquer pourquoi les malades atteints d'X fragile ont une morphologie cérébrale sensiblement normale. La principale modification neuroanatomique documentée chez ces malades (ainsi que chez les malades atteints d'autisme) est l'hypoplasie du vermis postérieur.

Tout défaut métabolique le long de la voie de récupération des purines aurait des conséquences neurologiques et comportementales manifestes après cette période de prolifération neuroblastique et neurogliale. La période périnatale pendant laquelle la permutation génique et l'impression des récepteurs se produit est sensible à une "térogénèse métabolique" tardive. Un défaut métabolique génétique faisant intervenir un gène ou un groupe de gènes normalement activés pendant cette période aura des répercussions importantes sur les récepteurs membranaires et sur le développement post-natal du cerveau. Il est intéressant de noter que l'analyse du néo-cortex chez les adultes atteints d'X fragile présente une morphologie dendritique spinale anormale suggérant une anomalie de la maturation dendritique postnatale.

Expérimentation clinique avec un précurseur de la guanosine, à savoir l'inosine

Quarante-six patients ont été traités pendant au moins 3 mois avec 21 résultats favorables dont deux spectaculaires et 25 résultats nuls, sans aucun trouble secondaire signalé :

- Trisomie 21 : sur 19 patients, huit réponses favorables dont deux quasiment spectaculaires chez des malades souffrant de graves troubles du comportement
- Syndrome 4p- : sur 2 patients, 2 résultats favorables
- Syndrome 18q- : sur 4 patients, 2 résultats favorables
- Syndrome de la fragilité de l'X : sur 11 patients, 7 résultats favorables
- Syndrome de Willi Prader : sur 2 patients, 2 résultats favorables

- Syndrome psychotique sans anomalie chromosomique : sur 5 patients, 5 résultats favorables
- Syndrome d'hyperactivité et d'hyperréactivité : sur 2 patients, 2 résultats favorables.

5 **Indications thérapeutiques**

Les effets enregistrés portant sur les troubles du comportement (anxiété, instabilité, agressivité et auto-agressivité, réactions psychotiques ou autistiques etc.), il apparaît que la guanosine et ses précurseurs et dérivés immédiats sont susceptibles de rééquilibrer le métabolisme purique perturbé dans de nombreux états de type psychotique. Pour la guanosine les doses prévisibles s'étendent de 5 à 150 mg/kg/jour, et pour les autres précurseurs et dérivés précités, en particulier la xanthosine et l'inosine, les doses d'administration seront comprises entre 20 à 150 mg/kg/jour.

15 Les médicaments objets de la présente invention peuvent être préparés de manière classique et en soi parfaitement connue. Il peut en particulier s'agir de diverses formes de dosage de la guanosine et/ou de ses dérivés et précurseurs, notamment destinés à l'administration orale, par exemple des comprimés, gélules ou analogues.

20 Les maladies dont les complications de type psychiatrique sont susceptibles d'être améliorées par cette médication sont :

- les syndromes chromosomiques entraînant une débilité de l'intelligence (trisomie 21, fragilité de l'X, 4p-, 5p-, 18q- etc.)
- les syndromes de psychose régressive et les syndromes autistiques et,
- 25 plus généralement, les troubles du comportement survenant au cours de graves maladies du système nerveux central, comme la maladie d'Alzheimer par exemple.

TABLEAU I

TAUX D'AUGMENTATION OU DE DIMINUTION DE
L'INDICE MITOTIQUE
5 CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DU SYNDROME DE L'X FRAGILE,
CHEZ LES TEMOINS, CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE RETARD
MENTAL ET CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS D'AUTRES ETIOLOGIES

- N : nombre de patients
 10. M : pourcentage d'augmentation ou de diminution de l'indice mitotique
 SD : déviation standard
 t : t-test de Student

		GUANOSINE
15	Nombre total de patients atteints de Xqfra	N 19 M 18,4 SD 14,6
20	Echantillonage total de patients	N 215 M 2,8 SD 24,3 t 2,74 p 0,01 < p < 0,005
25	Total du groupe contrôle	N 80 M 5,6 SD 24,4 t 2,17 p 0,05 < p < 0,025
30	Trisomie 21	N 34 M -2 SD 30,6 t 2,68 p = 0,01
35	Retard mental	N 58 M -2,6 SD 20,4 t 4,1 p < 0,001

TABLEAU II

**TAUX D'AUGMENTATION OU DE DIMINUTION DE
L'INDICE MITOTIQUE**
**CHEZ DES PATIENTS MALES ATTEINTS DU SYNDROME DE
L'X FRAGILE, CHEZ DES PATIENTS MALES ATTEINTS DE
RETARD MENTAL, CHEZ DES PATIENTS MALES ATTEINTS
D'AUTRES ETIOLOGIES ET DANS LE GROUPE DE
TEMOINS MALES**

10

		GUANOSINE
15	Nombre total de patients mâles atteints de Xqfra	N 16 M 17,6 SD 19,7
20	Echantillonage total de patients mâles	N 90 M -1,4 SD 21,8 t 3,3 p p=0,001
25	Total du groupe contrôle mâle	N 29 M -1,5 SD 19 t 3,35 p 0,005 < p < 0,001
30	Mâles atteints de trisomie 21	N 17 M -0,5 SD 25,5 t 2,36 p p=0,025
35	Mâles atteints de retard mental	N 34 M -2,8 SD 23 t 3,15 p 0,005 < p < 0,001

40

TABLEAU III

TAUX D'AUGMENTATION OU DE DIMINUTION DE
L'INDICE MITOTIQUE
5 CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DU
SYNDROME DE L'X FRAGILE ET CHEZ DES
PATIENTS ATTEINTS DU SYNDROME DE DOWN

10

		GUANOSINE
Nombre total de patients atteints de Xqfra	N M SD	19 18,4 14,6
Echantillonage de patients atteints de trisomie 21 et psychotiques	N M SD t	8 13,4 31,3 NS
Patients atteints de trisomie 21 sans complications	N M SD t p	12 -14 21,1 4,94 $p < 0,001$
Mâles atteints du syndrome de l'X fragile	N M SD	16 17,6 15,7
Mâles atteints de trisomie 21 et psychotiques	N M SD t	7 20,1 27,5 0,3
Mâles atteints de trisomie 21 et psychotiques	N M SD t p	7 -19 7,3 5,62 $p < 0,001$

REVENDICATIONS

1. Utilisation de la guanosine ainsi que de ses précurseurs et dérivés pour la fabrication de médicaments destinés au traitement des déficits fonctionnels cérébraux.
5
2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur de la guanosine est la guanine.
3. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur de la guanosine est l'inosine.
- 10 4. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur est la xanthine.
5. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur est l'hypoxanthine.
- 15 6. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur est la xanthosine.
7. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur est l'acide 5'-inosinique.
8. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le dérivé de la guanosine est le 3'-monophosphate de guanosine.
- 20 9. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que les dérivés de la guanosine sont le 5'-monophosphate, le 5'-diphosphate et le 5'-triphosphate de guanosine.
10. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le dérivé de la guanosine est le 3',5'-monophosphate cyclique de guanosine.
- 25 11. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisée en ce que lesdits médicaments sont destinés au traitement des syndromes chromosomiques entraînant une débilité de l'intelligence, telle que la trisomie 21 et la fragilité de l'X.
12. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisée en ce que lesdits médicaments sont destinés au traitement des troubles du comportement survenant au cours de maladies du système nerveux central, telle que la maladie d'Alzheimer.
- 30 13. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisée en ce que lesdits médicaments sont destinés au traitement de syndromes d'hyperactivité, d'hyperréactivité, d'anxiété, ou de réactions psychotiques ou autistiques.
- 35

REVENDICATIONS MODIFIÉES

[reçues par le Bureau International le 18 novembre 1993 (18.11.93); revendication 10 supprimée; revendication 11-13 renumerotées 10-12; autres revendications inchangées (1 page)]

1. Utilisation de la guanosine ainsi que de ses précurseurs et dérivés, à l'exclusion des 3',5'-monophosphates cycliques d'adénosine et de guanosine, pour la fabrication de médicaments destinés au traitement des déficits fonctionnels cérébraux.
- 5 2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur de la guanosine est la guanine.
- 10 3. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur de la guanosine est l'inosine.
4. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur est la xanthine.
- 15 5. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur est l'hypoxanthine.
6. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur est la xanthosine.
- 20 7. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur est l'acide 5'-inosinique.
8. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le dérivé de la guanosine est le 3'-monophosphate de guanosine.
- 25 9. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que les dérivés de la guanosine sont le 5'-monophosphate, le 5'-diphosphate et le 5'-triphosphate de guanosine.
10. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisée en ce que lesdits médicaments sont destinés au traitement des syndromes chromosomiques entraînant une débilité de l'intelligence, telle que la trisomie 21 et la fragilité de l'X.
- 30 11. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisée en ce que lesdits médicaments sont destinés au traitement des troubles du comportement survenant au cours de maladies du système nerveux central, telle que la maladie d'Alzheimer.
12. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisée en ce que lesdits médicaments sont destinés au traitement de syndromes d'hyperactivité, d'hyperréactivité, d'anxiété, ou de réactions psychotiques ou autistiques.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 93/00625

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
Int. Cl. 5 A61K31/70; A61K31/52		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
Int. Cl. 5 A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BRAIN DYSFUNCTION vol. 5, No 5-6, 1992, pages 288- 300 PEETERS, M.A. ET AL 'FRAGILE X SYNDROME: A POSSIBLE DEFECT OF GUANOSINE PATHWAY' see the whole document	1,11,13
X	EP,A,0 355 899 (NIPPON SHINYAKU COMPANY LIMITED) 28 February 1990 see the whole document	1,10,12
X	EP,A,0 470 317 (ADIR ET COMPAGNIE) 12 February 1992 see the whole document	1
A	FR,A,2 437 834 (LEJEUNE, JEROME) 30 April 1980 see whole document	1-13
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input type="checkbox"/> See patent family annex.
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 23 September 1993 (23.09.93)	Date of mailing of the international search report 30 September 1993 (30.09.93)	
Name and mailing address of the ISA/ EUROPEAN PATENT OFFICE Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 93/00625

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>MONATSSCHRIFT KINDERHEILKUNDE vol. 139, No. 10, October 1991, pages 655 - 661 LEJEUNE, JEROME 'ZUR PATHOGENESE DER DEBILITÄT BEI DER TRISOMIE 21' see the whole document</p> <p>-----</p>	1-13
A	<p>TRENDS IN PHARMACOLOGICAL SCIENCE vol. 11, No 9, September 1991, pages 342 - 343 IJZERMAN, A.D. ET AL 'PHARMACOLOGY OF PURINERGIC RECEPTORS: IMPLICATIONS FOR DRUG DESIGN' see the whole document</p> <p>-----</p>	1-13

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.**

FR 9300625
SA 76204

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information. 23/09/93

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP-A-0355899	28-02-90	BE-A-	1004365	10-11-92
		CH-A-	679671	31-03-92
		FR-A-	2635526	23-02-90
		GB-A, B	2222164	28-02-90
		JP-A-	2223590	05-09-90
EP-A-0470317	12-02-92	FR-A-	2665636	14-02-92
		AU-B-	631679	03-12-92
		AU-A-	6322890	14-05-92
		CA-A-	2026118	11-02-92
		JP-A-	4095029	27-03-92
		US-A-	5173491	22-12-92
FR-A-2437834	30-04-80	None		

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

PCT/FR 93/00625

Demande Internationale No

I. CLASSEMENT DE L'INVENTION (si plusieurs symboles de classification sont applicables, les indiquer tous) ⁷

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

CIB 5 A61K31/70; A61K31/52

II. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée⁸

Système de classification	Symboles de classification
CIB 5	A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où de tels documents font partie des domaines sur lesquels la recherche a porté⁹

III. DOCUMENTS CONSIDERÉS COMME PERTINENTS¹⁰

Catégorie ¹¹	Identification des documents cités, avec indication, si nécessaire, ¹² des passages pertinents ¹³	No. des revendications visées ¹⁴
X	BRAIN DYSFUNCTION vol. 5, no. 5-6, 1992, pages 288 - 300 PEETERS, M.A. ET AL 'FRAGILE X SYNDROME: A POSSIBLE DEFECT OF GUANOSINE PATHWAY' voir le document en entier ---	1,11,13
X	EP,A,0 355 899 (NIPPON SHINYAKU COMPANY LIMITED) 28 Février 1990 voir le document en entier ---	1,10,12
X	EP,A,0 470 317 (ADIR ET COMPAGNIE) 12 Février 1992 voir le document en entier ---	1
A	FR,A,2 437 834 (LEJEUNE, JEROME) 30 Avril 1980 voir le document en entier ---	1-13
		-/-

¹¹ Catégories spéciales de documents cités:¹¹

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié postérieurement à la date de dépôt international ou à la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

IV. CERTIFICATION

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

23 SEPTEMBRE 1993

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

30.09.93

Administration chargée de la recherche internationale

OFFICE EUROPEEN DES BREVETS

Signature du fonctionnaire autorisé

MAIR J.

III. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS ¹⁴		(SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR LA DEUXIEME FEUILLE)
Catégorie ¹⁵	Identification des documents cités, ¹⁶ avec indication, si nécessaire des passages pertinents ¹⁷	No. des revendications visées ¹⁸
A	<p>MONATSSCHRIFT KINDERHEILKUNDE vol. 139, no. 10, Octobre 1991, pages 655 - 661 LEJEUNE, JEROME 'ZUR PATHOGENESE DER DEBILITÄT BEI DER TRISOMIE 21' voir le document en entier ----</p> <p>TRENDS IN PHARMACOLOGICAL SCIENCE vol. 11, no. 9, Septembre 1991, pages 342 - 343 IJZERMAN, A.D. ET AL 'PHARMACOLOGY OF PURINERGIC RECEPTORS: IMPLICATIONS FOR DRUG DESIGN' voir le document en entier -----</p>	1-13 1-13

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE
RELATIF A LA DEMANDE INTERNATIONALE NO.**

FR 9300625
SA 76204

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche internationale visé ci-dessus.

Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets. 23/09/93

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP-A-0355899	28-02-90	BE-A- 1004365 CH-A- 679671 FR-A- 2635526 GB-A,B 2222164 JP-A- 2223590	10-11-92 31-03-92 23-02-90 28-02-90 05-09-90
EP-A-0470317	12-02-92	FR-A- 2665636 AU-B- 631679 AU-A- 6322890 CA-A- 2026118 JP-A- 4095029 US-A- 5173491	14-02-92 03-12-92 14-05-92 11-02-92 27-03-92 22-12-92
FR-A-2437834	30-04-80	Aucun	

EPO FORM 9072

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82